

Title	Interferon- $\alpha$ suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinsase C pathway
Author(s)	名和, 誉敏
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59839">https://hdl.handle.net/11094/59839</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	な お 敏
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 9 1 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Interferon- $\alpha$ suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway (Interferon- $\alpha$ はprotein kinase C pathwayの活性化を介して、B型肝炎ウイルスの enhancer II の転写活性を抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 竹原 徹郎 (副査) 教 授 松浦 善治 教 授 上田 啓次

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

B型肝炎ウイルス (HBV) には、複製時の転写を増強させるエンハンサー (En) 領域が2ヶ所存在し、En Iはインターフェロン (IFN)- $\alpha$ により活性が抑制されるという報告がある。しかし重要な複製中間体であるpregenome RNAの産生に関わる En IIとIFN- $\alpha$ との検討はなされていない。今回我々はIFN- $\alpha$ が En II活性に与える影響を検討し、その機序について解析を行った。

### 〔 方 法 なら び に 成 績 〕

HBVのEn II 配列を組み込んだレポータープラスミドを作製し、それをヒト肝癌細胞株 Huh-7 に導入して、培養液中にIFN- $\alpha$ を添加した後の En II 活性の変化を Luciferase Assay にて検討した。また En II 領域に欠失や変異を入れた種々のプラスミドを作製し、IFN- $\alpha$ の作用部位を検討した。IFN- $\alpha$ により様々なシグナルが活性化されることが知られているが、いずれのシグナルが関与するかを、各々の阻害剤を併用して検討を行った。En II 配列の組み込みにより著明に転写活性は増強されたが、その活性はIFN- $\alpha$ 添加により約60%に低下した。En II 領域の nt 1703-1727 および nt 1746-1770 の両領域を欠失させると、IFN- $\alpha$ による抑制効果がほぼ消失した。種々の阻害剤を併用したところ、プロテインキナーゼC (PKC) の阻害剤である Staurosporine, Rottlerin, Gö6976 併用によって、IFN- $\alpha$ によるEn II の抑制効果は有意にブロックされた。IFN- $\alpha$ により PKC- $\alpha/\beta$ および $\delta$ が活性化されていたため、IFN- $\alpha$ による En II 活性の抑制には PKC の複数の isoform が関与していると考えられた。IFN- $\alpha$ に PKC 阻害剤を併用してもphospho-STAT1は発現され、Rottlerin 併用によりIFN- $\alpha$ によるISG誘導は阻害されたが、他の PKC 阻害剤では ISG

の誘導は阻害されなかった。また PKC 活性剤である phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) は phospho-STAT1 および ISG を誘導することなくEn II 活性を低下させた。以上のことから、IFN- $\alpha$ によるEn II 活性の抑制においてSTAT1および ISG の関与は否定的と考えられた。

### 〔 総 括 〕

IFN- $\alpha$  は、ISG 誘導経路とは独立した PKC 経路の活性化を介して、Enhancer II の転写活性を抑制すると考えられた。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

B型肝炎ウイルス (HBV) 複製時の転写過程において、その活性を増幅させるエンハンサー (En) 領域が HBV genome 内には2ヶ所存在する。この内 En I は IFN- $\alpha$  により活性が抑制されることが示されているが、HBVの肝指向性を規定している En II と IFN- $\alpha$  との検討についての報告は存在しなかった。

本研究では、HBVのEn II 配列を組み込んだレポータープラスミドを作製して実験系を組み、IFN- $\alpha$ がEn II 活性を抑制することを証明し、その作用機序を検討した。IFN- $\alpha$ のEn II 活性抑制の作用部位は nt 1703-1727 および nt 1746-1770 の2つの領域が中心であることが明らかとなった。またIFN- $\alpha$ によるEn II 活性の抑制はPKC経路の活性化を介して起こり、JAK-STAT-ISGの誘導という従来のウイルス抑制経路とは独立したものであることが示された。IFN- $\alpha$ の作用機序は多彩であるが、JAK-STAT-ISGの誘導以外にウイルス増殖を抑制する機序があることを示した報告は数少ない。本研究はHBVの複製において重要な役割を担うEn II 活性がIFN- $\alpha$ により抑制されることを明らかにした初めての報告であり、IFN- $\alpha$ が持つ多彩な抗ウイルス活性の機序の一端を解明した意義ある研究であると考えられ、博士 (医学) の学位に値する。